

# Segrevanje tkiva med ablacijo tumorjev z ireverzibilno elektroporacijo

Anže Županič, Damijan Miklavčič

Univerza v Ljubljani, Fakulteta za elektrotehniko, Tržaška 25, 1000, Ljubljana  
E-pošta: anze.zupanic@fe.uni-lj.si, damijan.miklavcic@fe.uni-lj.si

**Povzetek.** Izpostavitve bioloških celic električnemu polju visoke jakosti lahko povzroči elektroporacijo celičnih membran, to je nastanek prevodnih poti med celično notranjostjo in zunanostjo. Elektroporacija se uporablja za transport različnih molekul preko celične membrane (reverzibilna elektroporacija) ali pa za ubijanje celic (ireverzibilna elektroporacija), kar je mogoče uporabljati tudi za ablacijo bioloških tkiv. Glavna prednost ireverzibilne elektroporacije pred drugimi ablaacijskimi metodami je v njenem netermičnem učinkovanju in posledično hitrejši regeneraciji tkiva. Da bi bila ablacija z ireverzibilno elektroporacijo učinkovita, je treba pred operativnim postopkom natančno določiti položaje posameznih elektrod glede na ciljno tkivo in napetosti med posameznimi elektrodami. V prispevku predstavljamo postopek za numerično načrtovanje ireverzibilne elektroporacije na podlagi sekvenčnega modela elektroporacije in numerične optimizacije z genetskim algoritmom. Segrevanje tkiva med dovajanjem električnih pulzov med optimizacijo je mogoče znižati s penalizacijo višjih temperatur v optimizacijski kriterijski funkciji. Ugotovili smo, da optimizacije parametrov elektroporacije ni mogoče izvesti v času, potrebnem za načrtovanje zdravljenja na kliniki, če je v optimizacijo vključen natančen izračun segrevanja tkiva med dovajanjem pulzov. Namesto tega predlagamo postopek optimizacije, pri katerem je segrevanje med optimizacijo zgolj konservativno ocenjeno, medtem ko se natančen izračun izvede le tedaj, ko konservativna ocena sprememb temperature nakazuje možnost termičnih poškodb tkiva.

**Ključne besede:** ireverzibilna elektroporacija, ablacija, numerično modeliranje, optimizacija, rak

## Tissue heating during tumor ablation with irreversible electroporation

Exposing biological cells to sufficiently strong external electric fields causes electroporation of cell membranes, i.e. occurrence of transient or permanent permeable pathways between the interior and exterior of the cell. Electroporation can be used to introduce various molecules into cells (reversible electroporation) or to kill cells (irreversible electroporation), which can in turn be used for tissue ablation. The main advantages of irreversible electroporation over other ablation techniques are its non-thermal nature and consequently fast tissue regeneration. For efficient tissue ablation that utilizes its non-thermal nature it is therefore crucial that an adequate electric field distribution is achieved in the target tissue and that the temperature inside the tissue stays below the thermal damage thresholds. This can be achieved by careful positioning of the electrodes with respect to the target tissue and an appropriate choice of the number, duration and amplitude of electric pulses applied during the treatment. We present a treatment planning procedure for planning irreversible electroporation for cancer ablation that uses a sequential model of electroporation and a genetic algorithm-based optimization procedure. We show that it is possible to reduce tissue heating during the optimization procedure by penalizing higher temperatures in the objective function. We also show that optimization of electroporation parameters takes too much time when an accurate calculation of the temperature distribution is performed for each set of

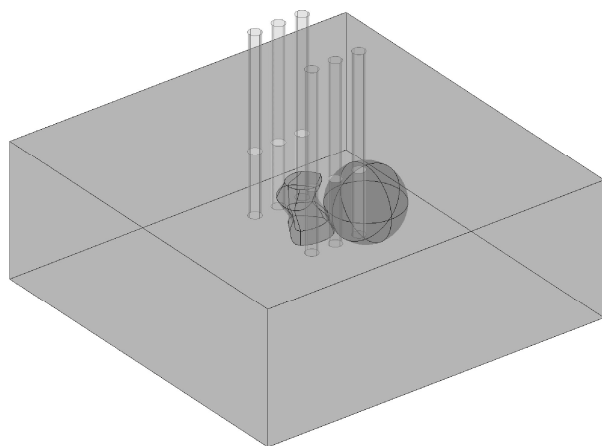
parameters. Instead, we propose that heating during electric pulse delivery is only conservatively estimated in the optimization procedure, while an accurate calculation is performed only when the conservative estimate implies the possibility of thermal damage.

## 1 Uvod

Če biološko celico izpostavimo zunanemu električnemu polju dovolj visoke jakosti, pride v celični membrani do strukturnih sprememb, ki omogočajo transport snovi skozi membrano. Elektroporacijo, kot se pojav imenuje, je mogoče nadzorovati s primerno izbiro parametrov električnih pulzov [1]. Električni pulzi nižjih napetosti celico elektroporirajo le začasno, tako da se po preteku nekaj minut celična membrana zaceli, celične funkcije pa se povrnejo v fiziološko stanje [2]. Ta pojav se imenuje reverzibilna elektroporacija in ga večinoma uporabljamo za vnos snovi v celice [3-5]. Električni pulzi višjih napetosti pa povzročijo ireverzibilno elektroporacijo, ki vodi v celično smrt [6]. V zadnjih letih so pričeli ireverzibilno elektroporacijo uporabljati v medicini za ablacijo tkiva [7]. Njena glavna prednost pred drugimi ablaacijskimi metodami je njeno netermično učinkovanje, saj smrt celic namesto

visokih ali nizkih temperatur, kot pri večini ostalih ablacijskih metod, povzroči lokalno električno polje. Tako se proteini v ekstracelularnem matriksu ohranijo, s tem pa se pospeši regeneracija tkiva [6].

Za uspešno ablacijo ciljnega tkiva z ireverzibilno elektroporacijo je potrebno v tkivu doseči električno polje dovolj visoke jakosti. To je moč zagotoviti z numeričnim načrtovanjem zdravljenja, kot smo že prikazali v dosedanjih raziskavah na primeru elektrokemoterapije globoko ležečega tumorja [8,9]. S kombinacijo analize medicinskih slik, gradnje anatomsko-realistične geometrije, numeričnih izračunov porazdelitve električnega polja in optimizacije je mogoče izračunati optimalne položaje posameznih elektrod in napetosti med njimi, ki bodo vodile do uspešne (reverzibilne ali ireverzibilne) elektroporacije tkiva. Pri ablaciji z ireverzibilno elektroporacijo je poleg jakosti električnega polja v tkivu potrebno upoštevati tudi segrevanje tkiva zaradi Joulskih izgub, saj se v primeru termične smrti celic in denaturizacije ekstracelularnih proteinov izgubijo prednosti ireverzibilne elektroporacije pred ostalimi ablacijskimi metodami. V ta namen smo v naš postopek za načrtovanje zdravljenja za elektrokemoterapijo [8,9] dodali še izračun Joulskega segrevanja zaradi izpostavitve tkiva zunanjemu električnemu polju. Preverili smo, kolikšno segrevanje tkiva povzročajo električni pulzi, ki se trenutno uporabljajo pri ablaciji z ireverzibilno elektroporacijo in preverili trajanje optimizacijskega postopka, v katerem bolj ali manj natančno računamo segrevanje tkiva med ireverzibilno elektroporacijo. Ob tem smo predlagali poenostavitev izračuna segrevanja, ki bistveno skrajša čas optimizacije.



Slika 1: Geometrija tkiva za optimizacijo z ireverzibilno elektroporacijo: šest elektrod, postavljenih v dveh vrstah v okolico sredinsko postavljenega tumorja. Desno od tumorja je krogla, ki pomeni kritično tkivo, v katerem električna poljska jakost ne sme preseči praga ireverzibilne elektroporacije.

## 2 METODE

Vse izračune v raziskavi smo opravili na realni geometriji podkožnega tumorja, v okolico katerega so bile vstavljene igelne elektrode (Slika 1) [10]. V bližino tumorja smo postavili tkivo krogelne oblike, ki predstavlja kritično tkivo, v katerem električno polje ne sme preseči praga ireverzibilne elektroporacije [11]. V praksi bi tkivo lahko predstavljajo pomembnejše živce ali pa srčno mišico.

Za numerično računanje smo uporabili paket za reševanje diferencialnih enačb z metodo končnih elementov Comsol Multiphysics 3.5a (COMSOL AB, Švedska). Porazdelitev električnega potenciala v geometriji smo iskali z reševanjem Laplaceove diferencialne enačbe:

$$\nabla \cdot (\sigma \cdot \nabla V) = 0, \quad (1)$$

kjer je  $\sigma$  električna prevodnost tkiva in  $V$  električni potencial. Pri tem smo uporabili sledeče robne pogoje: 1) konstanten električni potencial na aktivnih elektrodah

$$V = k \quad (2)$$

in 2) električno izolacijo

$$n \cdot (J_1 - J_2) = 0 \quad (3)$$

na vseh zunanjih robnih ploskvah geometrije.

Za matematični model elektroporacije smo izbrali t.i. sekvenčni model, ki upošteva spreminjanje električne prevodnosti med elektroporacijo – prevodnost tako postane funkcija električnega polja [12,13]:

$$\sigma(E) = \frac{\sigma_2 - \sigma_1}{E_{irr} - E_{rev}} \cdot E + \sigma_1, \quad (4)$$

kjer sta  $\sigma_1$  oziroma  $\sigma_2$  električna prevodnost ne-elektroporiranega oziroma elektroporiranega tkiva,  $E_{rev}$  oziroma  $E_{irr}$  pa pragova reverzibilne oziroma ireverzibilne elektroporacije.

Visokonapetostni električni pulzi poleg elektroporacije v bioloških tkivih povzročajo tudi segrevanje. Segrevanje tkiv zaradi električnih pulzov smo opisali s Pennesovo biotoplotno enačbo [14]:

$$\rho c \frac{\partial T}{\partial t} = \nabla \cdot (k \nabla T) - \rho_b c_b w_b (T - T_b) + Q_m + Q, \quad (5)$$

kjer je  $T$  temperatura,  $\rho$  gostota tkiva,  $c$  toplotna kapaciteta tkiva,  $\rho_b$ ,  $c_b$ ,  $w_b$  in  $T_b$  gostota, toplotna kapaciteta, pretok in temperatura krvi (v tem zaporedju),  $k$  toplotna prevodnost tkiva,  $Q_m$  toplota v tkivu, ki nastane z metabolizmom, in  $Q$  toplota v tkivu, ki nastane zaradi zunanjih virov, v našem primeru Joulskih izgub zaradi izpostavitve tkiva zunanjemu električnemu polju. Vrednosti posameznih parametrov v enačbi (4) in

enačbi (5) so bile pridobljene iz znanstvene literature in so zapisane v Tabeli 1 [12, 15].

Tabela 1: Parametri uporabljeni pri izračunu porazdelitve električnega polja in porazdelitve temperature z enačbami (1), (4) in (5) med dovajanjem električnih pulzov pri ireverzibilni elektroporaciji. Upoštevani toplotni parametri so bili enaki za vsa tkiva, med tem ko smo pri elektroporacijskih parametrih upoštevali različne vrednosti za tumor in druga tkiva.

| Parameter           | Vrednost               |
|---------------------|------------------------|
| $\sigma_1^{tumor}$  | 0.2 S/m                |
| $\sigma_2^{tumor}$  | 0.8 S/m                |
| $\sigma_1^{tissue}$ | 0.1 S/m                |
| $\sigma_2^{tissue}$ | 0.4 S/m                |
| $E_{rev}^{tumor}$   | 400 V/cm               |
| $E_{irr}^{tumor}$   | 900 V/cm               |
| $E_{rev}^{tissue}$  | 200 V/cm               |
| $E_{irr}^{tissue}$  | 800 V/cm               |
| $\rho$              | 1050 kg/m <sup>3</sup> |
| $c$                 | 3600 J/(kg·K)          |
| $k$                 | 0.51 W/(m·K)           |
| $\rho_b$            | 1060 kg/m <sup>3</sup> |
| $c_b$               | 3600 J/(kg·K)          |
| $w_b$               | 0.0044 s <sup>-1</sup> |
| $T_b$               | 37 °C                  |
| $Q_m$               | 420 W/m <sup>3</sup>   |

Slika 2 prikazuje izračun porazdelitve temperature z enačbo (5) po koncu zadnjega električnega pulza, za 50×100 μs električnih pulzov amplitude 500 V.

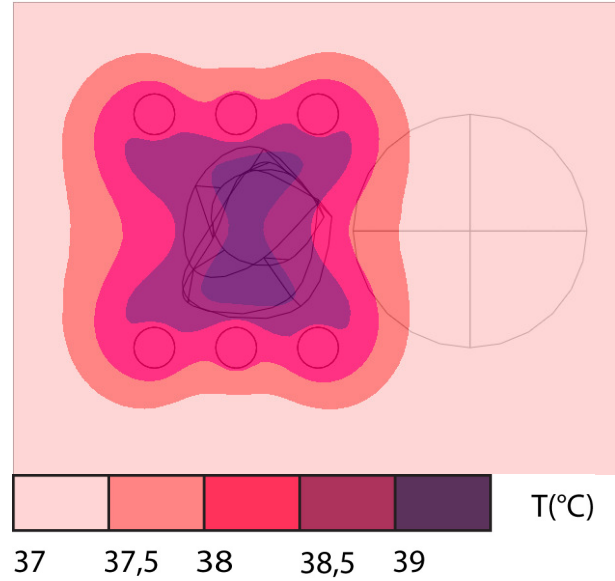
Za hitrejšo oceno dviga temperature v tkivu smo namesto enačbe (5) uporabili enačbo (6), ki upošteva zgolj električni tok kot toplotni vir, medtem ko zanemari prevajanje toplote, odvajanje toplote preko krvnega pretoka in metabolizem:

$$\Delta T = \frac{\sigma E^2 N t}{\rho c}, \quad (6)$$

kjer je  $N$  število električnih pulzov in  $t$  trajanje pulzov,  $\sigma$ ,  $\rho$  in  $c$  pa so definirane že v enačbi (5). Izračun segrevanja z enačbo (6) da višje temperature kot izračun z enačbo (5), zato je mogoče enačbo (6) uporabiti kot konservativno oceno segrevanja med ireverzibilno elektroporacijo.

Za hitrejšo oceno dviga temperature v tkivu smo namesto enačbe (5) uporabili enačbo (6), ki upošteva zgolj električni tok kot toplotni vir, medtem ko zanemari prevajanje toplote, odvajanje toplote preko krvnega pretoka in metabolizem:

$$\Delta T = \frac{\sigma E^2 N t}{\rho c}, \quad (6)$$



Slika 2: Porazdelitev temperature po 50×100 μs električnih pulzih amplitude 500 V, izračunano z enačbo (5). Najvišja temperatura, dosežena blizu elektrod, je bila 38,1 °C (311,1 K), medtem ko je temperatura v središču tumorja dosegla 39,3 °C (312,3 K).

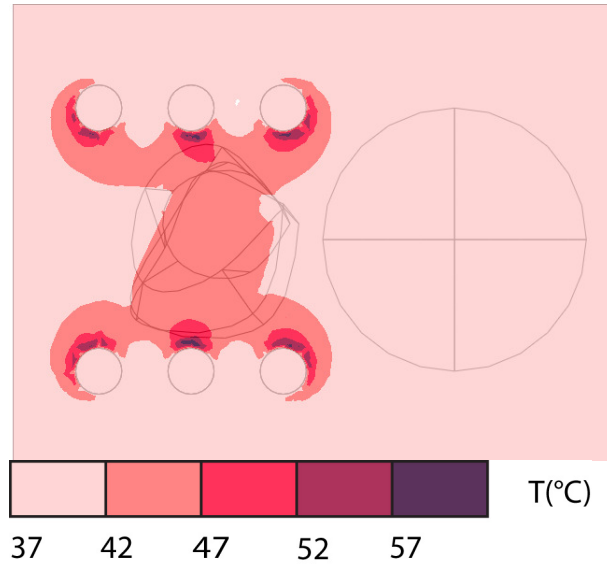
kjer je  $N$  število električnih pulzov in  $t$  trajanje pulzov,  $\sigma$ ,  $\rho$  in  $c$  pa so definirane že v enačbi (5). Izračun segrevanja z enačbo (6) da višje temperature kot izračun z enačbo (5), zato je mogoče enačbo (6) uporabiti kot konservativno oceno segrevanja med ireverzibilno elektroporacijo.

Slika 3 prikazuje izračun porazdelitve temperature z enačbo (6) po zaključku elektroporacije za 50×100 μs električnih pulzov amplitude 500 V.

Za optimizacijo položajev elektrod in napetosti med njimi smo uporabili genetski algoritem [16]. Uporabljena kriterijska funkcija je kot vhod sprejela porazdelitev električnega polja v tkivu, kot izhod pa dala vrednost kriterija. Začetno populacijo rešitev smo določili naključno, pri tem pa smo upoštevali naslednje omejitve: nabor sprejemljivih razdalj med vrstama elektrod, globlin vstavljanja elektrod in napetosti med vrstama elektrod. Rešitve so se iz generacije v generacijo razmnoževale z verjetnostmi proporcionalnimi vrednostim njihovih kriterijskih funkcij:

$$F = \sum a_i E_{irr}^i - \sum b_j E_{irr}^j - \sum c_j E_{rev}^j - \sum d_{ij} T^{ij}, \quad (7)$$

kjer so  $a_i$ ,  $b_j$ ,  $c_j$  in  $d_{ij}$  uteži, ki kažejo pomen posameznih faktorjev za učinkovito ireverzibilno elektroporacijo. Ti faktorji so pokritost tumorja (ciljnega tkiva) (<sup>1</sup>) in drugih tkiv (<sup>2</sup>) z električnim poljem nad pragom reverzibilne  $E_{rev}$  ali ireverzibilne elektroporacije  $E_{irr}$  in dosežena temperatura v tkivu  $T$ .



Slika 3: Porazdelitev temperature po 50x100 µs električnih pulzih amplitude 500 V, izračunano z enačbo (6). Najvišja temperatura, dosežena blizu elektrod, je bila 67,3 °C (340,3 K), medtem ko je temperatura v središču tumorja dosegla 43,2 °C (316,2 K).

Tabela 2: Parametri, uporabljeni v genetskem algoritmu in kriterijski funkciji

| Parameter   | Vrednost |
|-------------|----------|
| $a_i$       | 100      |
| $b_j$       | 20       |
| $c_j$       | 2        |
| $d_{ij}$    | 10       |
| $p$         | 0.25     |
| $P_{mut}$   | 0.4      |
| $P_{cross}$ | 0.6      |

Nove rešitve, ki sestavljajo nove populacije rešitev, so nastale iz prejšnjih rešitev z operacijama križanja (enačba (8)) in mutacije (enačba (9)), ki sta izbrani z vnaprej določenima verjetnostma  $P_{mut}$  in  $P_{cross}$ :

$$z_{i+1} = e_i \cdot x_i + (1 - e_i) \cdot y_i; \quad e_i \in [0, 1] \quad (8)$$

$$z_{i+1} = x_i + f_i \cdot x_i; \quad f_i \in [-p, p], \quad (9)$$

kjer so  $z_{i+1}$  rešitve v naslednji generaciji,  $x_i$  in  $y_i$ , rešitve v predhodni generaciji,  $e_i$  in  $f_i$  pa naključno izbrane uteži iz zgoraj navedenih intervalov. Tabela 2 prikazuje parametre genetskega algoritma, uporabljene v študiji.

### 3 REZULTATI

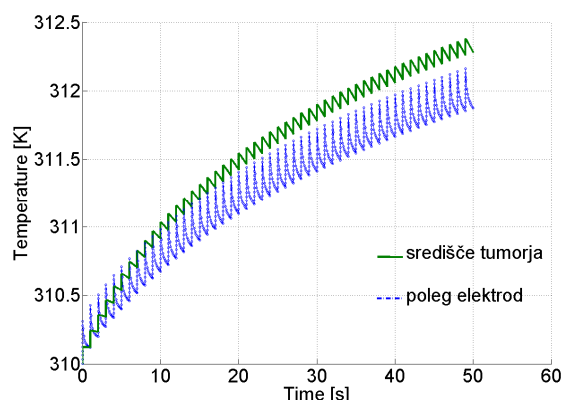
V prvem delu študije smo opravili nekaj izračunov dviga temperature v tkivu med ireverzibilno elektroporacijo z uporabo enačbe (5). Ker je izračun posamezne porazdelitve temperature trajal več minut, iz prejšnjih študij pa smo potrebno število izračunov v optimizacijskih postopkih elektroporacije ocenili na vsaj nekaj tisoč [8], smo ocenili, da bi celoten optimizacijski postopek lahko trajal več dni ali celo tednov. Ker je treba načrt zdravljenja v kliničnem okolju zagotoviti čim prej, smo se odločili temperaturno porazdelitev izračunati na drug način, ki pa bi bil še vedno dovolj natančen, a veliko hitrejši od postopka izračuna z enačbo (5).

Odločili smo se za preizkus postopka »screening«, pri katerem smo za izračun porazdelitve temperature uporabili konservativni približek (enačba (6)), medtem ko smo enačbo (5) uporabili samo v primerih, ko je rezultat približka nakazoval čezmerno segrevanje tkiva – v našem primeru najvišjo temperaturo nad 50 °C. Tako smo enačbo (5) uporabili samo pri 12 % vseh izračunov v optimizaciji, skupen čas računanja pa smo skrajšali na 29 ur – čas, ki bi bil sprejemljiv za načrtovanje v kliničnem okolju. Po končani optimizaciji smo primernost načrta zdravljenja verificirali z enačbo (5). Primerjava načrtov zdravljenja, pridobljenih z osnovnim postopkom in s postopkom »screening« (optimizacija z uporabo enačbe (5) je bila izvedena zgolj zaradi te primerjave – trajala je 11 dni) je pokazala, da se med seboj bistveno ne razlikujeta (tabela 3).

Tabela 3: Primerjava rezultatov načrtovanja zdravljenja z ireverzibilno elektroporacijo za osnovni in »screening« postopek: primerjani so volumen ireverzibilno elektroporiranega tumorja ( $^{\dagger}$ ) in kritičnega tkiva ( $^{\ddagger}$ ) ter maksimalna temperature v tkivu.

| Postopek    | $E_{irr} (^{\dagger})$ [%] | $E_{irr} (^{\ddagger})$ [%] | $T_{max}$ [°C] |
|-------------|----------------------------|-----------------------------|----------------|
| Osnovni     | 100                        | 0,05                        | 39,3           |
| »Screening« | 100                        | 0,09                        | 39,3           |

Slika 4 prikazuje, kako se temperatura v okolici elektrod in v središču tumorja spreminja med dovajanjem električnih pulzov (za izračun je bila uporabljena enačba (5)). Pri tem smo uporabili optimalne parametre, kot so bili določeni z optimizacijo in postopkom »screening«, pri čemer se rezultati brez uporabe postopka »screening« niso bistveno razlikovali. Iz slike 4 je razvidno, da se zaradi visoke toplotne prevodnosti elektrod, ki delujejo kot toplotni ponor, med zaporednima električnima pulzoma temperatura v okolici elektrod močno zniža, medtem ko je ta sprememba v tumorju veliko manjša. Zato je temperature po zaključku zadnjega pulza v tumorju višja kot v okolici elektrod.



Slika 4: Temperatura v središču tumorja in poleg ene izmed elektrod med 50 100  $\mu$ s električnimi pulzi amplitude 500 V, izračunano z enačbo (5). Najvišja temperatura, dosežena blizu elektrod, je bila 39,1 °C (312,1 K), medtem ko je temperatura v središču tumorja dosegla 39,3 °C (312,3 K).

#### 4 RAZPRAVA

Ker je netermično uničenje celic ena najpomembnejših lastnosti ireverzibilne elektroporacije za ablacijo tkiva, smo v postopek za načrtovanje zdravljenja pri medicinski uporabi elektroporacije [8], ki smo ga razvili za elektrokemoterapijo, dodali izračun porazdelitve temperature med dovajanjem električnih pulzov.

Optimizacija skupaj z natančnim izračunom porazdelitve temperature (enačba (5)) je trajala predolgo, zato smo poskusili s poenostavitvijo izračuna porazdelitve temperature (enačba (6)), ki je bila manj točna, a je bil njen izračun veliko hitrejši. Rezultati kažejo, da se kakovost načrta zdravljenja zaradi uporabljene poenostavitve računanja ni bistveno spremenila, medtem ko se je čas, potreben za pridobitev načrta, močno skrajšal, iz 11 dni na 29 ur. Ocenjujemo, da bi bilo računanje porazdelitve temperature v tkivu z enačbo (5) potrebno zgolj, če bi v prihodnosti začeli za ablacijo uporabljati več pulzov višjih napetosti ali pa višje ponavljalne frekvence. Ob uporabi trenutnih parametrov električnih pulzov pa je predstavljen postopek za načrtovanje ablacije z ireverzibilno elektroporacijo povsem primeren za uporabo v kliničnih študijah.

Pred nami so že v nekaj študijah poskušali s pomočjo numeričnega modeliranja oceniti dvig temperature v tkivu med ablacijo z ireverzibilno elektroporacijo [17,18]. Ugotovili so, da obstajajo »varni« parametri električnih pulzov, ki ne povzročajo pretiranega segrevanja tkiva. A ker te študije niso upoštevale sprememb prevodnosti, ki so posledica elektroporacije in ki dodatno povečajo segrevanje prek povečanja električnega toka, ki teče skozi tkivo [19], smo njihove izračune ponovili, pri tem pa smo uporabili sekvenčni model elektroporacije, ki spremembo prevodnosti upošteva. Naši izračuni dviga temperature v tkivu ob

parametrih električnih pulzov, ki jih trenutno uporabljajo v kliničnih študijah (50×100  $\mu$ s električnih pulzov, s ponavljalno frekvenco 1 Hz in razmerjem med napetostjo in razdaljo med elektrodami približno 2000 V/cm) [20], so pokazali, da do pretiranega segrevanja tkiva, ki bi povzročilo termične poškodbe, med ireverzibilno elektroporacijo ne pride, s čimer smo potrdili rezultate prejšnjih študij.

Predstavljeni postopek načrtovanja zdravljenja raka z ireverzibilno elektroporacijo je prvi primer numeričnega načrtovanja zdravljenja, namenjen kliničnemu okolju. V prihodnjih raziskavah bi bilo treba postopek validirati v študijah *in vivo* ireverzibilne elektroporacije ter nato prek posvetovanj z uporabniki (zdravniki in kirurgi) prilagoditi kliničnim potrebam.

#### ZAHVALA

Avtorja se zahvaljujeta Agenciji za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije za finančno podporo.

#### LITERATURA

- [1] I.P. Sugar, E. Neumann. Stochastic model for electric field-induced membrane pores electroporation. *Biophysical Chemistry* 19: 211-225, 1984.
- [2] E. Neumann, M. Schaefer-Ridder, Y. Wang, P.H. Hofschneider. Gene transfer into mouse lymphoma cells by electroporation in high electric fields. *EMBO Journal* 1: 841-845, 1982.
- [3] L.M. Mir, S. Orlowski, J. Belehradek, C. Paoletti. Electrochemotherapy potentiation of antitumor effect of bleomycin by local electric pulses. *European Journal of Cancer* 27: 68-72, 1991.
- [4] L.C. Heller, R. Heller. In vivo electroporation for gene therapy. *Human Gene Therapy* 17: 890-897, 2006.
- [5] G. Serša, D. Miklavčič. Electrochemotherapy of tumours (Video article). *Journal of Visual Experiments* 22: 1038, 2008.
- [6] B. Rubinsky, G. Onik, P. Mikus. Irreversible electroporation: A new ablation modality - Clinical implications. *Technology in Cancer Research and Treatment* 6: 37-48, 2007.
- [7] R. Davalos, L.M. Mir, B. Rubinsky. Tissue ablation with irreversible electroporation. *Annals of Biomedical Engineering* 33:223-231, 2005.
- [8] A. Županič, S. Čorović, D. Miklavčič. Optimization of electrode position and electric pulse amplitude in electrochemotherapy. *Radiology and Oncology* 42: 93-101, 2008.
- [9] D. Miklavčič, M. Snoj, A. Županič, B. Kos, M. Čemažar, M. Kropivnik, M. Bračko, T. Pečnik, E. Gadžijev, G. Serša. Towards treatment planning and treatment of deep-seated solid tumors by electrochemotherapy. *Biomedical Engineering Online* 9: 10, 2010.
- [10] D. Šel, A. Maček-Lebar, D. Miklavčič. Feasibility of employing model-based optimization of pulse amplitude and electrode distance for effective tumor electroporation. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 54: 773-781, 2007.
- [11] A. Županič, D. Miklavčič. Optimization and numerical modeling in irreversible electroporation treatment planning. V: B. Rubinsky (urednik), *Irreversible electroporation*, Berlin, Springer Verlag, 203-222, 2010.
- [12] D. Šel, D. Cukjati, D. Batiškaite, T. Slivnik, L.M. Mir, D. Miklavčič. Sequential finite element model of tissue electroporation. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 52: 816-827, 2005.

- [13] N. Pavšelj, Z. Bregar, D. Cukjati, D. Batiuskaite, L.M. Mir, D. Miklavčič. The course of tissue permeabilization studied on a mathematical model of a subcutaneous tumor in small animals. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 52: 1373-1381, 2005.
- [14] H.H. Pennes. Analysis of tissue and arterial blood temperature in the resting human forearm. *Journal of Applied Physiology* 85: 5-34, 1948.
- [15] I. Lacković, R. Magjarević, D. Miklavčič. Three-dimensional finite-element analysis of joule heating in electrochemotherapy and in vivo gene electrotransfer. *IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation*, 15: 1338-1347, 2009.
- [16] J.H. Holland. Adaptation in natural and artificial systems: an introductory analysis with applications to biology, control, and artificial intelligence. Cambridge, MIT Press, 1992.
- [17] R.V. Davalos, B. Rubinsky. Temperature considerations during irreversible electroporation. *International Journal of Heat and Mass Transfer* 51: 5617-5622, 2008.
- [18] H. Shafiee, P.A. Garcia, R.V. Davalos. A preliminary study to delineate irreversible electroporation from thermal damage using the Arrhenius equation. *Journal of Biomechanical Engineering* 131: 074509, 2009.
- [19] A.T. Esser, K.C. Smith, T.R. Gowrishankar, J.C. Weaver. Towards solid tumor treatment by irreversible electroporation: intrinsic redistribution of fields and currents in tissue. *Technology in Cancer Research and Treatment* 6: 261-273, 2007.
- [20] J. Rubinsky, G. Onik, P. Mikus, B. Rubinsky. Optimal parameters for the destruction of prostate cancer using irreversible electroporation. *Journal of Urology* 180: 2668-2674, 2008.

**Anže Županič** je doktoriral leta 2010 na Fakulteti za elektrotehniko Univerze v Ljubljani in je zaposlen kot raziskovalni sodelavec z doktoratom v Laboratoriju za biokibernetiko na Fakulteti za elektrotehniko. Njegovo raziskovalno delo je osredotočeno na numerično modeliranje in optimizacijo elektrokemoterapije in drugih medicinskih terapij na podlagi elektroporacije.

**Damijan Miklavčič** je doktoriral leta 1993 na Fakulteti za elektrotehniko Univerze v Ljubljani, kjer je trenutno zaposlen kot redni profesor in predstojnik Laboratorija za biokibernetiko. Njegovo raziskovalno delo je v zadnjih letih povezano s prenosom genov in zdravilnih učinkovin pri zdravljenju raka z elektroporacijo, razvojem strojne opreme in numeričnim modeliranjem bioloških procesov.